

五种野生地被植物的抗寒性评价

顾文毅, 刘小利, 魏海斌

(青海省林业科学研究所, 青海 西宁 810016)

摘要:以红花岩黄芪、金露梅、银露梅、砂地柏和柠条 5 种野生地被植物为试材, 在低温处理后测定其电导率, 并用 Logistic 方程拟合 S 形曲线后, 求出 5 种地被植物的半致死温度, 研究半致死温度和植物抗寒性之间的关系, 同时研究不同低温控制下游离脯氨酸和可溶性糖的变化趋势与植物抗寒性之间的关系。结果表明: 5 种野生地被植物的电导率、游离脯氨酸和可溶性糖含量均随低温胁迫时间的延长出现先增加后降低的变化趋势, 其抗寒性由强至弱评价为砂地柏>金露梅>红花岩黄芪>银露梅>柠条。

关键词:野生地被植物; 抗寒性; 游离脯氨酸; 可溶性糖

中图分类号:S 688.4 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)22-0069-04

低温之所以造成植物伤害, 主要是生物膜结构改变, 导致电解质的外渗^[1]。用电导率测定结果衡量植物抗寒性更科学化, 易量化, 且便于不同种类和品种间的相互比较^[2-3]。该试验欲通过测定植物电导率, 用 Logistic 方程拟合 S 形曲线后, 求出 5 种野生地被植物的半致死温度, 通过半致死温度鉴定其抗寒性。同时通过不同低温控制下游离脯氨酸和可溶性糖的变化趋势, 分析其与抗寒性的相应关系。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料为红花岩黄芪、金露梅、银露梅、柠条锦鸡儿的 2 年生播种苗, 砂地柏 2 年生扦插苗。

1.2 试验方法

试验于 2012 年 11 月底开始, 选择生长健康植株的 1 年生枝条上的中部叶片, 采摘后立即装入自封袋, 放入冰盒中带回实验室。分别用自来水、蒸馏水冲洗, 用吸水纸吸干水分。将每种叶片分为 6 份, 置于密封的自封袋中, 每处理设 3 次重复。将分装好的叶片放入可调低温冰箱中, 试验设 6 个温度梯度, 分别为: 0、-5、-10、-15、-20、-25℃。处理 24 h 后将材料取出放入冰箱(4℃)解冻 12 h, 备用。

1.3 项目测定

电导率的测定: 将处理组叶片从冰箱中取出, 用去离子水冲洗 2 遍, 再用洁净滤纸吸净表面水分。将叶片

切碎, 每个重复均取 1 g 置于 20 mL 刻度试管中, 用移液管取 10 mL 去离子水于试管中。然后将试管放入真空干燥器中用真空泵抽气 20 min 以抽出细胞间隙的空气, 当缓缓放入空气时, 水即渗入细胞间隙, 叶片变成半透明状, 沉入水下。将以上试管放在振荡器上振荡 1 h 后将各试管充分摇匀, 用电导仪测其初始电导率值。测毕, 将各试管盖塞封口, 置沸水浴中 20 min, 以杀死植物组织。取出试管后用自来水冷却至室温, 并在室温下平衡 10 min, 摇匀, 测其最终电导率值。相对电导率(REC, %) = (初始电导率 - 空白电导率) / (最后电导率 - 空白电导率) × 100%。对电解质渗出率配以 Logistic 方程求得半致死温度 LT₅₀, 以 LT₅₀ 作为实际抗寒性的评定依据^[4]。

游离脯氨酸含量测定采用改进的茚三酮比色法^[5]; 植物组织中可溶性糖含量测定采用蒽酮比色法^[5]。

1.4 标准曲线的绘制

1.4.1 脯氨酸含量标准曲线绘制 在分析天平上称取 25 mg 脯氨酸, 倒入小烧杯内, 用蒸馏水溶解, 然后倒入 250 mL 容量瓶中, 加蒸馏水定容至刻度, 此标准液中每 1 mL 含脯氨酸 100 μg。系列脯氨酸浓度的配制取 6 个 50 mL 容量瓶, 分别盛入脯氨酸原液 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0 mL, 用蒸馏水定容至刻度, 摇匀, 各瓶的脯氨酸浓度分别为 1、2、3、4、5、6 μg/mL。取 6 支试管, 分别吸取 2 mL 系列标准浓度的脯氨酸溶液及 2 mL 冰醋酸和 2 mL 酸性茚三酮溶液, 每管在沸水浴中加热 30 min。冷却后各试管加入 4 mL 甲苯, 振荡 30 s, 静置片刻, 使色素全部转至甲苯溶液。用注射器吸取各管上层脯氨酸甲苯溶液至比色杯中, 以甲苯溶液为空白对照, 于 520 nm 波长处比色。标准曲线的绘制: 先求出吸光度值

第一作者简介:顾文毅(1978-), 女, 本科, 助理研究员, 现主要从事野生地被植物等研究工作。E-mail: woshixinyuer@sohu.com.

基金项目:国家科技部成果转化资助项目(2009GB2G200398)。

收稿日期:2014-07-14

(Y)依脯氨酸浓度(X)而变的回归方程式,再按回归方程式绘制标准曲线,计算 2 mL 测定液中脯氨酸的含量($\mu\text{g}/2\text{mL}$)。脯氨酸含量($\mu\text{g}/\text{g}$)= $[X \times 5/2]/\text{样重}(\text{g})$ 。

表 1 脯氨酸含量标准曲线试剂

试剂	管号						
标准脯氨酸量/mL	0	1	2	3	4	5	6
水/mL	2.0	1.8	1.6	1.2	0.8	0.4	0.0
冰乙酸/mL	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
显色液/mL	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0
脯氨酸含量/($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)	0.0	2.0	4.0	8.0	12.0	16.0	20.0

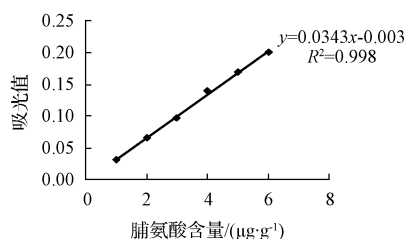


图 1 脯氨酸含量标准曲线

1.4.2 可溶性糖含量标准曲线的绘制 1%蔗糖标准液:将分析纯蔗糖在 80℃ 下烘至恒质量,精确称取 1.000 g。加少量水溶解,转入 100 mL 容量瓶中,加入 0.5 mL 浓硫酸,用蒸馏水定容至刻度。100 $\mu\text{g}/\text{L}$ 蔗糖标准液:精确吸取 1%蔗糖标准液 1 mL 加入 100 mL 容量瓶中,加水至刻度。取 20 mL 刻度试管 11 支,从 0~10 分别编号,按蒽酮法测可溶性糖标准曲线试剂量表加入溶液和水。然后按顺序向试管中加入 0.5 mL 蒽酮乙

酸乙酯试剂和 5 mL 浓硫酸,充分振荡,立即将试管放入沸水浴中,逐管均准确保温 1 min,取出后自然冷却至室温,以空白作对照,在 630 nm 波长下测其吸光度,以糖含量为横坐标,以吸光度为纵坐标,绘制标准曲线,并求出标准线性方程。

表 2 可溶性糖含量标准曲线试剂

试剂	管号					
	0	1,2	3,4	5,6	7,8	9,10
100 $\mu\text{g}/\text{L}$ 蔗糖液/mL	0	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0
水/mL	2.0	1.8	1.6	1.4	1.2	1.0
蔗糖量/ μg	0	20	40	60	80	100

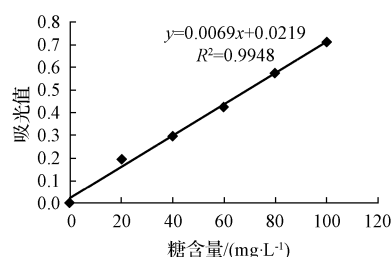


图 2 可溶性糖含量标准曲线

2 结果与分析

2.1 电导率测定结果

从表 3 可以看出,5 种地被植物相对电导率随处理温度的降低呈上升的变化趋势,说明在低温胁迫下,植物组织遭到了不同程度的破坏,且随着低温胁迫的加剧,植物组织遭到破坏的程度越高。

表 3 几种地被植物相对电导率

样品	相对电导率/%					
	0℃	-5℃	-10℃	-15℃	-20℃	-25℃
柠条	23.45536	24.02312	24.76395	25.66980	26.46858	27.17130
银露梅	22.30660	22.80342	23.23974	24.18989	25.08135	25.92550
红花岩黄芩	21.68082	22.07179	22.85385	23.20932	24.64820	24.70245
金露梅	22.56933	23.23405	24.06746	24.51062	25.05224	25.50361
砂地柏	14.39674	14.78385	15.37131	15.71910	16.20460	17.42191

从表 4 可以看出,供试品种间 P 值 < 0.01 ,差异达到极显著水平;但不同低温处理的温度之间 P 值 > 0.05 ,差异不显著。说明不同品种在低温胁迫下,植物组织遭到破坏的程度显著不同,这与品种的抗寒特性密切相关。

表 4 几种地被植物低温处理叶片
相对电导率方差分析

变异来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值
品种间	3.4677	4	0.8669	14.5297	0.0000
温度间	0.2927	5	0.0585	0.9812	0.4371
误差	3.4606	58	0.0597		
总变异	8.4962	89			

2.2 品种抗寒性的确定

以表 3 的相对电导率为依据,建立起各种地被植物在不同低温处理下的 Logistic 曲线方程 $y = K/(1 + ae^{-bx})$ (表 5)。配合 Logistic 回归方程求得 5 种地被植物的半致死温度,以半致死温度高低反映植物耐低温能力的强弱,半致死温度越低,耐低温能力越强,反之,半致死温度越高,耐低温能力越弱。

由表 5 可知,5 种地被植物的低温半致死温度分别为:砂地柏—43.6905℃,金露梅—39.2813℃,红花岩黄芩—35.8919℃,银露梅—32.4750℃,柠条—30.7000℃。并且经分析测试,其拟合方程符合度 r 值介于 0.956~0.997,通过 P 检验,表明实际值与模拟方程拟合程度达

表 5 几种地被植物细胞膜伤害的 Logistic 拟合方程及半致死温度

品种	Logistic 方程 $y=K/(1+ae^{-bx})$	符合度 r	LT ₅₀ /℃	差异显著性标注
柠条	$y'=-0.0406x+1.2282$	0.997	-30.7000	aA
红花岩黄芪	$y'=-0.0372x+1.3286$	0.956	-35.8919	bBC
金露梅	$y'=-0.0322x+1.2576$	0.985	-39.2813	cC
银露梅	$y'=-0.0405x+1.2999$	0.983	-32.4750	aAB
砂地柏	$y'=-0.0424x+1.8350$	0.960	-43.6905	dD

注:相同字母表示差异不显著,小写字母代表 $P=0.05$ 水平上的显著差异,大写字母表示 $P=0.01$ 水平上的极显著差异。

到极显著水平。

根据 5 种地被植物低温半致死温度的高低,确定其抗寒能力高低顺序依次为:砂地柏>金露梅>红花岩黄芪>银露梅>柠条。

2.3 低温胁迫对游离脯氨酸含量的影响

由游离脯氨酸含量标准曲线得出不同温度处理下 5 种植物叶片游离脯氨酸含量变化趋势图(图 3)。脯氨酸在植物抗寒中具有重要作用,低温胁迫往往伴随着脯氨酸含量的增加,其含量高低与植物抗寒性密切相关,抗寒性强的品种增加的倍数越高。从图 3 可以看出,随着低温胁迫的加剧,5 种植物叶片内脯氨酸含量明显增加,并达到某一高峰值后开始下降。其中以砂地柏受到低温胁迫后脯氨酸含量增加最多,其次为金露梅、红花岩黄芪、银露梅,脯氨酸含量增加最少的是柠条。由此说明,在低温胁迫下,砂地柏能产生相对较多的脯氨酸来增强抗寒能力,柠条由于产生的脯氨酸较少,因此相比其它 4 种植物抗寒性较差。

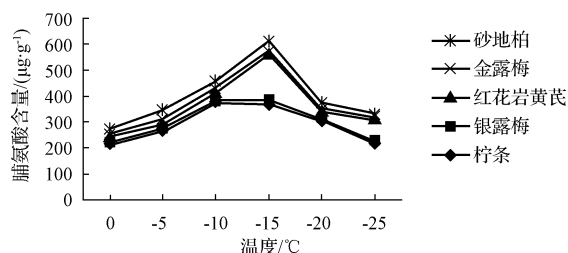


图 3 不同温度处理几种地被植物脯氨酸含量变化

2.4 低温胁迫对可溶性糖含量的影响

可溶性糖是冷害和冻害条件下细胞内的保护物质,低温锻炼下,其含量与多数植物的抗寒性呈正相关关系,植物在遭遇外界寒冷环境下,能以提高可溶性糖含量的方式抵抗寒冷。从图 4 可以看出,随着低温胁迫的加剧,5 种植物叶片内可溶性糖含量均呈现先增加后降低,随后又增加再降低的“波浪形”变化趋势。说明植物在遭受低温时,会不断调节自身体内的可溶性糖含量来抵御寒冷,以免组织受到伤害。砂地柏在遭受低温胁迫时,可溶性糖含量的增加和变化幅度明显较其它品种大,在一定程度上也说明砂地柏抗寒性较其它 4 个品种

强;柠条在整个低温胁迫过程中,可溶性糖含量的增加和变化幅度均不明显,说明其抵御寒冷的能力较其它 4 种植物弱。

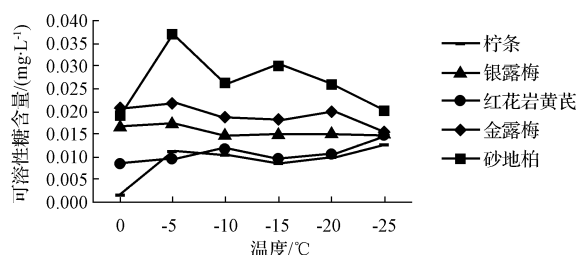


图 4 不同温度处理几种地被植物可溶性糖含量变化

3 结论与讨论

该研究结果表明,在低温胁迫下,红花岩黄芪、砂地柏、金露梅、银露梅、柠条 5 种地被植物抗旱生理生化指标的变化趋势表现一致。均表现为电导率、游离脯氨酸、可溶性糖含量随低温胁迫时间的延长先增加后降低。但不同试验树种在胁迫的不同时期对低温胁迫的适应性反应存在一定差异。

综合该试验低温胁迫下各项测定指标变化趋势的一致性表现,可将参试植物的抗寒性由强至弱评价为:砂地柏>金露梅>红花岩黄芪>银露梅>柠条。5 种植物能够忍受的最低温度极限由低到高分别为:砂地柏-43.6905℃,金露梅-39.2813℃,红花岩黄芪-35.8919℃,银露梅-32.4750℃,柠条-30.7000℃。结合试验得出的低温半致死温度可以作为品种是否可以向更高纬度、更寒冷的地区引种的主要参考依据。

参考文献

- [1] Lyons J M. Chilling injury in plants[J]. Plant Physiology, 1973, 24: 445-466.
- [2] 贺普超, 牛立新. 电导法测定果树抗寒性中确定适当计量单位的探讨[J]. 中国果树, 1986, 9(3): 45-47.
- [3] 吴经柔. 果树抗寒性的鉴定-细胞原生质透性测定-电导法[J]. 中国果树, 1980(2): 44-47.
- [4] 唐士勇. Logistic 方程在果树半致死温度测定中的应用[J]. 北方果树, 1993(4): 23-24.
- [5] 赵世杰. 植物生理学试验指导[M]. 北京: 中国农业出版社, 1998.

植物生长调节剂 GGR6 对中国无忧花生理生化的影响

覃世杰¹, 谭长强^{2,3}, 侯文娟², 王凌晖², 姚姜铭², 方雪²

(1. 广西国有六万林场, 广西 玉林 537000; 2. 广西大学 林学院, 广西 南宁 530005; 3. 广西林业科学研究院, 广西 南宁 530002)

摘要:以中国无忧花为试材, 采用单因素完全随机设计方法, 研究了植物生长调节剂 GGR6 对中国无忧花的影响。结果表明: 喷施不同浓度植物生长调节剂 GGR6 对中国无忧花的各生理生化指标影响不同。对中国无忧花苗木叶面喷施 GGR6 最佳浓度在 20~30 mg/L。随着 GGR6 浓度的增加, 与 CK 相比, 其叶片叶绿素含量、可溶性糖含量、游离脯氨酸含量呈现先增大后减小趋势; 对超氧化物歧化酶(SOD)活性呈现先减小后增大趋势; 对叶片丙二醛(MDA)含量影响呈现逐渐降低趋势。

关键词:中国无忧花; 植物生长调节剂; GGR6; 生理生化; 苗木

中图分类号:S 685.99 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)22-0072-04

中国无忧花(*Saraca dives* Pierre)属苏木科无忧花属树种, 又称火焰花、无忧花。分布于云南东南部至广西西部、西南部和南部, 越南、老挝也有分布。其树冠椭圆状伞形, 树姿雄伟, 叶大翠绿并具多阶段变色的特点, 嫩叶紫红而下垂, 花序大型, 花期长, 盛花期花开满枝头, 橙红似火焰, 有“火焰花”之称, 为华南极有栽培前途

的观赏树种^[1]。树干通直, 材质坚实, 为制作家具、农具、桥梁及建筑的优质用材。树皮入药, 可治风湿和月经不调, 又是优良的紫胶虫寄主^[2]。目前, 无忧花研究甚少, 仅有一些研究者在广东汕头^[3]、华南植物园^[4]、广西北海^[5]对其进行了栽培及引种试验。近些年来随着林业产业化发展, 极其复杂多变的城市环境要求科研人员选育观赏性高、抗逆性强的园林绿化苗木。外施植物生长调节剂调控植物生长发育, 在增强植物抗逆性^[6-7]都已有一定的研究, 近年来随着园林绿化苗木产业的发展, 越来越多的人投入到该研究当中, 而对中国无忧花的研究目前尚鲜见报导。现以中国无忧花为试材, 研究了外施不同浓度梯度的植物生长调节剂对中国无忧花苗木生理生化特性的影响, 以期得出最适合中国无忧花苗木

第一作者简介:覃世杰(1973-), 男, 广西东兰人, 本科, 工程师, 现主要从事林场科技及管理工作。E-mail: 315990730@qq.com.

责任作者:王凌晖(1965-), 男, 博士, 教授, 现主要从事森林培育和园林植物栽培学等研究工作。E-mail: wanglinghui97@163.com.

基金项目:广西林业科技资助项目(桂林科字[2012]第 27 号); 广西林业科技推广示范资助项目(502006xm09n001)。

收稿日期:2014-07-16

Evaluation of Cold Resistance of Five Wild Groundcover Plants

GU Wen-yi, LIU Xiao-li, WEI Hai-bin

(Qinghai Forestry Research Institute, Xining, Qinghai 810016)

Abstract: With *Hedysarum multijugum*, *Potentilla fruticosa*, *Potentilla glabra*, *Sabina vulgaris* and *Caragana Korshinskii* five kinds of wild groundcover plants as materials, after cryogenic treatment the electrical conductivity were measured, and Logistic equation was used to fit s-shaped curve, the lethal temperature of five farming were calculated, lethal temperature and the relationship between the plant cold hardiness were studied, under different low temperature controls at the same time, the change trend of free proline content and soluble sugar content and the relationship between the plant cold hardiness were researched. The results showed that the electrical conductivity of five kinds of wild groundcover plants, free proline content and soluble sugar content, all appear to increase with the extension of low temperature stress time after reducing trend, its cold resistance by began to evaluation for: *Sabina vulgaris* > *Potentilla fruticosa* > *Hedysarum multijugum* > *Potentilla glabra* > *Caragana Korshinskii*.

Keywords: wild groundcover plants; cold resistance; proline; soluble sugar